

肺移植後閉塞性細気管支炎進展におけるNK細胞の役割 マウス異所性気管移植モデルを用いて

著者	川上 徹
号	86
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3621号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00123302

氏名	かわかみ とおる 川上 徹
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成29年3月24日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	肺移植後閉塞性細気管支炎進展におけるNK細胞の役割 —マウス異所性気管移植モデルを用いて—
論文審査委員	主査 教授 岡田 克典先生、 教授 小笠原 康悦先生 教授 舘 正弘先生 教授 相場 節也先生

論文内容要旨

肺移植は移植後の5年生存率が未だに50%台と、臓器移植の中で最も予後が悪いものの一つである。その最大の要因は、肺移植後の閉塞性細気管支炎(BO)であり、肺移植後5年以内に50%の患者が発症する重篤な合併症である。肺移植後のBOは、慢性拒絶反応の一つであり、繰り返される細気管支上皮細胞の傷害に起因すると考えられているが、難治性・進行性であり、その免疫メカニズムには解明しなくてはならない点が多く残っている。肺移植後BOの発症・増悪には、T細胞が関与することが明らかにされてきたが、CD8⁺T細胞と同様のエフェクター機能を有するNatural Killer(NK)細胞の役割は未だに明らかになっていない。今回、BO発生過程におけるNK細胞の役割を解明することを目的に研究を行った。

BOの動物モデルとして多用されているマウス異所性気管移植モデル(ドナーマウスの気管graftをレシピエントマウスの背部皮下に移植するモデル)を作成し、閉塞性気道病変(OAD)を評価することで、BOにおける免疫機構を検討した。まず、BOにおけるリンパ球のエフェクター分子の役割を検討したところ、isograftに比べOADが進展するallograftでは、mRNAレベルでパーフォリン(PRF)およびインターフェロン- γ (IFN- γ)の発現が亢進していることが明らかとなった。そこで、PRFおよびIFN- γ のノックアウトマウスを用いて、さらなる検討を行ったところ、PRFノックアウトマウスへ移植した気管graftではOADが抑制されており、PRFを介した細胞傷害活性がOAD進展に重要な役割を担っていることが明らかになった。

PRFをエフェクター作用として有する細胞はCD8⁺T細胞、NK細胞が挙げられる。レシピエントマウスに抗体を投与しCD8⁺T細胞もしくはNK細胞を欠損させたところ、CD8⁺T細胞欠損時だけでなく、NK細胞欠損時においてもOADが抑制された。また、CD4⁺T細胞においても同様に検討を行ったところ、CD4⁺T細胞もOAD進展に重要な役割を担っていることが明らかになった。allograftでは免疫応答が強く発揮されるため、isograftと比べ気管graft内のリンパ球数が増加していたが、リンパ球中のNK細胞の割合も増加しており、NK細胞はOAD進展に重要な役割を担っていることが明らかになった。

次に、NK細胞の活性化メカニズムを解明するため、移植後の気管graft内でのNK活性化リガンドの発現を検討したところ、NKG2Dリガンドの一つであるRae-1の発現が、mRNAレベルおよびタンパク質レベルで亢進していることが明らかとなった。そこで、BO増悪におけるNKG2Dリガンドの発現の効果を検討するため、Rae-1強発現マウスから気管graftを採取し、BOマウスモデルを作成したところ、Rae-1強発現気管graftではOADは進展し、逆に、レシピエントマウスにNKG2D抗体を投与したところ、OADは抑制された。NKG2D受容体はNK

細胞と一部の細胞傷害性 T 細胞が有する活性化受容体であるが、そのうち NKG2D 受容体刺激により活性化された NK 細胞が OAD を進展させるかを検討するため、T 細胞および B 細胞を持たない SCID マウスをレシピエントマウスとして BO モデルマウスを作成した。その結果、Rae-1 強発現群は野生型群に比べ、OAD を進展させることが明らかになった。以上から、OAD 形成には NKG2D 受容体を介した NK 細胞の活性化が重要であることが明らかとなった。

最後に、NK 細胞の細胞傷害活性が同種移植時に発揮されるか、また、NK 細胞の細胞傷害活性が NKG2DL の発現に相関するかを *in vitro* でも検討したところ、同種移植時に NK 細胞の細胞傷害活性は強く現れ、NK 細胞の細胞傷害活性と NKG2DL の発現は相関関係にあることが明らかとなった。

以上の結果から、BO マウスモデルにおいて、NK 細胞は BO の進展に重要な役割を担っていることが明らかとなった。さらに、NK 細胞の活性化には NKG2D 受容体および NKG2DL を介した刺激が重要で、NK 細胞はその細胞傷害活性で BO を進展させることがわかった。

審査結果の要旨

博士論文題目 肺移植後閉塞性細気管支炎進展における NK 細胞の役割
-マウス異所性気管移植モデルを用いて-

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 呼吸器外科学分野

学籍番号 B3MD5046 氏名 川上 徹

肺移植は終末期肺疾患患者に対する有効な治療法として確立し、本邦においても肺移植症例数は増加傾向にある。しかし、肺移植は依然として臓器移植の中で最も予後が悪いものの一つであり、その最大の要因は、肺移植後の慢性拒絶反応と考えられている閉塞性細気管支炎(BO)である。BO 発症の免疫メカニズムは、T 細胞を介した免疫応答が重要であると考えられ、T 細胞を標的とした免疫抑制療法が行われてきたが、肺移植後 BO は未だに難治性・進行性の合併症である。そのため、肺移植後 BO の免疫メカニズムの解明や新たな治療方法開発は肺移植成績向上に不可欠であり、さらなる研究が望まれる領域であった。

本研究は、肺移植後 BO 発症の免疫メカニズムにおける NK 細胞の役割を、BO モデルマウスとして広く認知されているマウス異所性気管移植モデルを用いて検討したものである。研究結果から、BO モデルマウスにおいて閉塞性気道病変の進展に NK 細胞が重要な役割を担っていることが明らかとなり、肺移植後の BO における NK 細胞の関与が示唆された。さらに、NK 細胞がもつパーフォリンを介した細胞障害活性、さらに NKG2D 受容体刺激を介した NK 細胞の活性が BO 発症・増悪に特に重要であることが多面的・多角的な分子生物学的検討により示唆された。これまで、移植後の拒絶反応における NK 細胞の関与を示唆する報告は散見されるが、BO の発症メカニズムにおける NK 細胞の関与、さらには、そのエフェクター機能の解析や NK 細胞の活性化メカニズムまで解明した報告はない。本研究では臨床現場でしばしば直面する肺移植後の BO の免疫メカニズムの一端として NK 細胞の役割を明らかにするとともに、今後の展望として NK 細胞もしくは NKG2D 受容体を介した NK 細胞の活性化を標的とした治療的アプローチにより、肺移植成績向上の可能性が示唆されており、極めて新規性に富む優れた研究であると考えられる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。